

Acta Medica Okayama

Volume 6, Issue 4

1938

Article 7

JUNI 1941

Über den Stoffwechsel im Krebsgewebe

Hideo Isaka*

*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

Über den Stoffwechsel im Krebsgewebe*

Hideo Isaka

Abstract

Um den Einfluß des Dehydronorcholens und der Cholsaure auf den Zucker- und Nukleinstoffwechsel im Karzinomgewebe zu vergleichen, wurde der durchschnittliche mg%ige Wert der Milchsäure und der Purinbasen durch Division mit dem Wert der Kontrollen, letzterer als 1 errechnet, als eine Kurve verzeichnet und in Figur I angegeben. Aus Figur I läßt sich ersehen, daß die Kurve des Purinbasen- und Milchsäuregehaltes in nach dem Mengenverhältnis des Dehydronorcholens fast parallel, während die der Cholsäure ganz umgekehrt verläuft; Bei Zufuhr von Dehydronorcholen wird der Gehalt an Milchsäure sowie an Purinbasen im Tumorgewebe bei 100mg am stärksten vermehrt, um bei einer größeren und kleineren Menge als 100mg ebenfalls abzunehmen. Bei Zufuhr von Cholsäure wird der Gehalt an Milchsäure bei 20-100mg vermehrt, um bei einer noch kleineren Menge allmählich vermindert zu werden, während dabei der Gehalt der Purinbasen gerade umgekehrt bei 20-100mg vermindert gefunden wurde, um bei einer noch kleineren Menge vermehrt zu werden. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß das Dehydronorcholen auf das Wachstum des Karzinomgewebes fordernd wirkt, während die Cholsäure auf das Karzinomgewebe in genau der gleichen Weise wirkt wie beim normalen Gewebe.

*Copyright (C) OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

Aus dem biochemischen Laboratorium der Med. Fakultät Okayama
(Vorstand: Prof. Dr. T. Shimizu).

Über den Stoffwechsel im Krebsgewebe

Von

Hideo Isaka.

Eingegangen am 14. Juni 1940.

Obwohl die Meinungen der Autoren über den Entstehungsmechanismus des Krebses ganz auseinandergehen, hat *H. v. Euler*¹⁾ die Ansicht vertreten, daß für die Entstehung des Krebses zwei Ursachen: Prädisposition und äußere Einflüsse bevorzugt in Betracht kommen, welche letztere auf die bis jetzt erkannten krebserzeugenden Substanzen zurückzuführen sind. Seitdem es *Yamagiwa* und *Ichikawa* im Jahre 1915 gelungen ist, bei Kaninchen und Ratten durch Teer Krebs zu erzeugen, wurde von vielen Autoren eine Anzahl von krebserzeugenden chemischen Substanzen aus dem Teer isoliert und untersucht.

Zuerst hat *E. L. Kennaway*²⁾ durch Synthese nachgewiesen, daß die krebserzeugenden Substanzen zu einem polyzyklischen Kohlenwasserstoff gehören, der nach *Hieger*³⁾ ein bestimmtes Fluoreszenzspektrum zeigt, welches dem des 1.2-Benzanthrazens ähnelt.

In diesem Zusammenhang hat *J. W. Cook*⁴⁾ viele Derivate von 1.2-Benzanthrazen hergestellt und ihre krebserzeugende Wirksamkeit geprüft. Davon erwies sich das von *E. Clar*⁵⁾ dargestellte 1.2.5.6-Dibenzanthrazen für die Entstehung von Krebs am wirksamsten, was von *J. W. Cook*, *I. Hieger* u. *E. L. Kennaway*⁶⁾ erwiesen wurde. Weiter wurde von *G. Barry*, *J. W. Cook* u. *G. A. D. Haslewood*⁷⁾ nachgewiesen, daß unter den 1.2-Benzanthrazenderivaten die Substitution an den Stellen C₅, C₆ oder C₅ u. C₆ des Moleküls für die Krebs erzeugung eine große Rolle spielt.

Im Jahre 1933 haben *Wieland* u. *Dane*⁸⁾ aus 12-Ketocholansäure, *L. F. Fieser* u. *M. S. Newman*⁹⁾ aus Cholsäure Methylcholanthren hergestellt, welches ein 5.6-substituiertes Benzanthrazenderivat ist. Nach *J. W. Cook*¹⁰⁾ soll dieses Methylcholanthren eine stärkere krebserzeugende Wirkung haben, woraus *J. W. Cook*¹¹⁾ schließt, daß die Gallensäure eine Muttersubstanz der krebserzeugenden Substanzen im Tierorganismus sei und unter abnormalem Abbau in ein Benzanthrazenderivat wie Methylcholanthren übergeführt werden könne.

Wenn das Methylcholanthren im Tierorganismus aus Gallensäuren wie Cholsäure, Desoxycholsäure entstehen konnte, so müssen Oxydoreduktion, Dehydratisierung, Decarboxylierung, Ringschluß der Seitenketten und Dehydrierung im Organismus

stattfinden. Diese Reaktionen gehen mit Ausnahme des Ringschlusses wohl im Organismus vor sich. Somit dürfte nach *J. W. Cook*¹¹⁾ ein Benzanthrazenderivat aus Gallensäure im Tierorganismus gebildet werden, aus dem schließlich Krebs entsteht.

In diesem Sinne habe ich nach *Wieland* u. *Dane*⁸⁾ aus 12-Ketocholansäure Dehydronorcholen hergestellt und seinen Einfluß auf den Zucker- und Eiweißstoffwechsel im Krebsgewebe untersucht und mit dem der Cholsäure verglichen. Andererseits wurde der Einfluß des Dehydronorcholens und der Cholsäure auf das Wachstum des transplantierten Rattenkrebses beobachtet.

Die Einflüsse der verschiedenen Aminosäuren und Salze auf das Wachstum und auf den Stoffwechsel des Krebstumors sind bereits von vielen Autoren untersucht worden. Betreffs der Wirkung der Gallensäure oder des polyzyklischen Kohlenwasserstoffs auf das Wachstum des Krebstumors ist einiges bekannt, aber ihre Wirkung auf den Stoffwechsel des Tumors, soweit sich aus der Literatur ersehen läßt, leider noch nicht.

Was den Zuckerstoffwechsel im Krebsgewebe anbetrifft, so wurden die Glykolyse und Atmung im Krebsgewebe nach *Flexner-Jobling*, von *Warburg*¹²⁾ und *Minami*¹³⁾ gasometrisch untersucht; sie fanden, daß im Krebsgewebe eine lebhaft anaerobe Glykolyse vor sich geht, die Atmung aber im Verhältnis zur Glykolyse weitaus schwächer ist. Danach haben viele Autoren wie *E. Negelein*¹⁴⁾, *E. Lüscher*¹⁵⁾ und *E. Mellanby*¹⁶⁾ die Glykolyse des Karzinomgewebes nach *Flexner-Jobling* untersucht und festgestellt, daß bei der anaeroben Glykolyse d-Milchsäure gebildet wird, wie es beim normalen Muskel der Fall ist, und daß der Zuckerstoffwechsel im Karzinomgewebe in genau der gleichen Weise vor sich geht, indem dabei d-Milchsäure in beiden Geweben in Gegenwart des Sauerstoffes in gleicher Weise abgebaut wird.

Autoren wie *H. C. Glover*¹⁷⁾, *Warburg*¹⁸⁾, *G. C. Herbert*¹⁹⁾, ²⁰⁾, *F. Dickens*²¹⁾, *H. Kraut* u. *E. Bumm*²²⁾, *A. Lasnitzki*²³⁾, *C. Neuberg*²⁴⁾, *Y. Okamoto*²⁵⁾, *O. Warburg* u. *K. Posener*²⁶⁾, *O. Rosenthal* u. *A. Lasnitzki*²⁷⁾ und *Fr. Bernhard*²⁸⁾, haben die aerobe und anaerobe Glykolyse sowie die Atmung sowohl im Karzinomgewebe und anderen Geschwülsten als auch im normalen Gewebe vergleichend gasometrisch untersucht und gefunden, daß im Karzinomgewebe die Glykolyse beträchtlich höher ist als im normalen Gewebe oder in anderen Geschwülsten, während die Atmung im Karzinomgewebe viel stärker herabgesetzt ist.

*R. Bierich*²⁹⁾, ³⁰⁾ hat darauf hingewiesen, daß die gesteigerte Milchsäurebildung im Karzinomgewebe nicht nur durch die gesteigerte Zuckerspaltung sondern auch durch die Hemmung der Zuckersynthese aus Milchsäure und durch die wegen verminderten Sauerstoffverbrauches im Krebsgewebe verursachte Atmungsschädigung bedingt ist.

Nach Ansicht von *O. Meyerhof*³¹⁾, *R. O. Loebe*³²⁾ und *R. Bierich* u. *A. Rosenbohm*³³⁾ geht Zuckerspaltung im Muskel und in der Leber oder auch im Karzinomgewebe auf zwei verschiedenen Wegen vor sich und zwar wird d-Milchsäure im normalen Gewebe aus Glykogen über Hexosenphosphorsäure gebildet, während sie im Karzinomgewebe aus Glukose nicht über Hexosephosphat, sondern direkt unter Co-fermentwirkung gebildet wird. Die abnorme Atmung des Karzinomgewebes soll nach *H. v. Euler*³⁴⁾ auf dem unbekannten Noxe beruhen, indem dabei ein Defekt im Zytochromsystem des Karzinomgewebes entsteht.

Es ist daher wohl anzunehmen, daß durch Spaltung der bei der Glykolyse im Karzinomgewebe vermehrten Milchsäure Energie für das Wachstum des Karzinomtumors geliefert werden muß.

Betreffs des Eiweißstoffwechsels im Krebsgewebe wurde von *R. A. Kocher*³⁵⁾ und *S. Yoshimoto*³⁶⁾ eine Vermehrung der Diaminosäuren angegeben, während dagegen im Extrakt des Karzinomgewebes von *J. C. Drumond*³⁷⁾ entweder eine mögliche Vermehrung des Diaminosäurestickstoffes oder von *F. Blumenthal*³⁸⁾ keine Veränderung im Eiweißstoffwechsel des Karzinomgewebes, verglichen mit dem des normalen Gewebes, beobachtet wurde. Von *H. v. Euler*³⁹⁾ wurde sogar kein Unterschied im Gehalt an Kathepsin zwischen dem Karzinomgewebe und normalem Gewebe gefunden.

Nach *Edlbacher* u. *K. W. Merz*⁴⁰⁾ soll der Argininsatz im Karzinomgewebe gesteigert und sein Arginasegehalt vermehrt gefunden werden, was von *G. Klein* u. *W. Ziese*⁴¹⁾ und *M. Kaiju*^{42 A)} für Säugetiere und Menschen bestätigt wurde. Nach *Kaiju*^{42 B)} pflegen sich das Karzinom- sowie das Sarkomgewebe durch ihren hohen Arginasegehalt auszuzeichnen.

Was den Nukleinstoffwechsel im Karzinomgewebe anbetrifft, so wurde von *H. G. Wells* u. *R. L. Esmond*⁴²⁾ und *S. Yoshimoto*³⁶⁾ behauptet, daß der Puringehalt im Karzinomgewebe im Vergleich mit der vermehrten Kernzahl nicht vermehrt ist, während nach *E. Petry*⁴³⁾ der Nukleingehalt im Karzinomgewebe durch Vermehrung des Zellkerns viel reichlicher ist als im normalen Gewebe.

Soweit sich aus der Literatur ersehen läßt, scheint, wie oben erwähnt, also die Untersuchung über den Nukleinstoffwechsel im Karzinomgewebe noch lückenhaft zu sein.

Um das Wesen der Kernvermehrung des Karzinomgewebes festzustellen, wurde im vorliegenden Versuch der Einfluß des Dehydronorcholens auf den Zucker- und Nukleinstoffwechsel untersucht. Das Dehydronorcholen ist eine Vorstufe des Methylcholanthrens, welches von *J. W. Cook*^{44 A)}, *L. F. Fieser* u. *A. M. Seligman*^{44 B)} als ein karzinogener Stoff betrachtet wird, obwohl die Tumorentwicklung nach *K. H. Baner*^{44 C)}, *A. Haddow*^{44 D)} und *Pybus* u. *Miller*^{44 E)} gerade umgekehrt durch kleine Mengen von karzinogenen aromatischen Kohlenwasserstoffen wie 1.2.5.6-Dibenzanthrazen, 1.2-Benzpyren und 5.6-Zyklopenteno-1.2-Benzanthrazen entweder gehemmt oder das spontane Mamma- oder Hautkarzinom dadurch zur Heilung gebracht wird.

Darüber, ob das Dehydronorcholen eine karzinogene Wirkung ausüben kann, gehen die Meinungen unter den Autoren auseinander. Nach *C. H. Waddington* u. *D. M. Needham*^{44 F)} hat es eine karzinogene, aber keine oestrogene Wirkung, während es nach *A. Hadow* u. *A. M. Robinson*⁴⁵⁾ keine karzinogene Wirkung zeigt.

Durch eine Reihe von Untersuchungen im hiesigen Institut ist bereits bekannt geworden, daß die Cholsäure den Nukleinstoffwechsel fördert und daß sie unter Hemmung der Zuckerspaltung die Glykogenie in Organen und Geweben bzw. in der Leber stark fördert.

Somit wurde erst der Einfluß der Cholsäure dann der des Dehydronorcholens auf den Zucker- sowie auf den Nukleinstoffwechsel im Karzinomgewebe untersucht, um ihn mit dem Einfluß der beiden auf den normalen Zucker- und Nukleinstoffwechsel vergleichen zu können.

Experimenteller Teil.

1. Einfluß des Dehydronorcholens auf die Muskelaulyse des Kaninchens.

Dehydronorcholen wurde nach der Vorschrift von *Wieland* u. *Sorge*⁴⁶⁾ und *Wiedersheim*⁴⁷⁾ aus Desoxycholsäure hergestellt. Aseptisch abpräparierte Muskeln von Kaninchen wurden mit der Hackmaschine fein zerrieben. Von diesem Muskelbrei wurden je 100 g in sterilisierte Kolben gefüllt, je mit 10, 20 und 40 cc einer 0.5 %igen oder 5 %igen Olivenöllösung von Dehydronorcholen versetzt, mit gesättigtem Chloroformwasser auf das Volumen von 250 cc aufgefüllt und unter Zusatz von 10 cc Toluol im Brutschrank bei 37°C 72 Stunden lang digeriert. Als Kontrolle wurde anstatt der Olivenöllösung von Dehydronorcholen dieselbe Menge einfacher Olivenöllösung zum Versuch gebraucht.

Das Reaktionsgemisch wurde unter Zusatz von 2-3 Tropfen einer Essigsäurelösung 5 Minuten lang gekocht, nach dem Erkalten der Kolbeninhalt mit Wasser im Meßzylinder auf einen Liter aufgefüllt und abfiltriert. Der Ammoniakstickstoff des Filtrats wurde nach *Krüger-Reich*⁴⁸⁾ bestimmt. Das Filtrat von 600 cc wurde mit 20 %iger Tanninlösung vollständig ausgefällt und unter Zusatz von 100 cc Wasser abfiltriert.

Dieses Filtrat von 600 cc wurde wiederum mit basischer Bleiazetatlösung gefällt, um das überschüssige Tannin zu entfernen, mit 100 cc Wasser versetzt und abfiltriert. Das Filtrat von 500 cc wurde mittels Schwefelwasserstoff entbleit, filtriert und durch Luftstrom vom Schwefelwasserstoff befreit. Von dieser Lösung wurde der Gesamtstickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. 400 cc dieser Lösung wurden mit einer 25 %igen Schwefelsäurelösung versetzt, bis die Lösung 5 % enthielt, mit einer 50 %igen Phosphorwolframsäurelösung vollständig gefällt und filtriert. Das Filtrat wurde mit Wasser auf 700 cc aufgefüllt. Von diesem Filtrat wurde der Monoaminosäurestickstoff ebenfalls nach *Kjeldahl* bestimmt.

Die Phosphorwolframsäurefällung wurde mit einer 5 %igen Schwefelsäurelösung gewaschen, mit Baryt zerlegt, abfiltriert und mit Wasser nachgewaschen. Das Filtrat und Waschwasser, mit Wasser auf 400 cc aufgefüllt, wurde durch Kohlensäure vom Baryt befreit. Von dieser Lösung wurde der Gesamtbasenstickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. Die Lösung von 300 cc wurde unter Ansäuerung mit Salpetersäure mit einer 20 %igen Silbernitratlösung vollständig gefällt, mit Wasser auf 500 cc aufgefüllt und abfiltriert. Von diesem Filtrat wurde der Diaminosäurestickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. Die Silberfällung wurde mit der 20 %igen Silbernitratlösung gut gewaschen,

unter Erwärmen auf dem Wasserbade mit verdünnter Salzsäure zerlegt und von der Chlorsilberfällung abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Wasser auf 50 cc aufgefüllt und von dieser Lösung der Purinbasenstickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt.

Die obenerwähnten Ergebnisse wurden in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Autolyse von 100 g Kaninchenmuskel

Dehydro- norchole- gehalt (g) (%)	Am- moniak-N (g) (%)	Gesamt-N (g)	Mono- amino- säuren-N (g) (%)	Gesamt- basen-N (g) (%)	Purin- basen-N (g) (%)	Diamino- säuren-N (g) (%)
Kontrolle						
0 (0)	0.0437 (5.35)	0.8165	0.6321 (77.29)	0.1318 (16.14)	0.0681 (8.35)	0.0612 (7.50)
0.05 (0.02)	0.0451 (5.52)	0.8172	0.6288 (76.65)	0.1327 (16.24)	0.071 (8.69)	0.0594 (7.27)
0.1 (0.04)	0.0473 (5.78)	0.8186	0.6257 (76.44)	0.1352 (16.52)	0.0735 (8.98)	0.0592 (7.23)
0.2 (0.08)	0.0518 (6.28)	0.8248	0.6173 (74.84)	0.1432 (17.36)	0.0813 (9.86)	0.058 (7.03)
0.5 (0.2)	0.0536 (6.43)	0.8326	0.6152 (73.88)	0.1514 (18.18)	0.0875 (10.51)	0.0574 (6.89)
1.0 (0.4)	0.043 (5.28)	0.8137	0.6324 (77.71)	0.1236 (15.19)	0.0584 (7.18)	0.0620 (7.62)
2.0 (0.8)	0.0374 (4.68)	0.7983	0.6328 (79.26)	0.1176 (14.73)	0.513 (6.13)	0.0625 (7.83)

(%) jeder Fraktion bezieht sich auf den Gesamt-N.

Ergebnisse.

Bei der Muskelaulyse wurde der Gesamtstickstoff durch die Wirkung des Dehydronorcholens etwas vermehrt gefunden. Von diesem Gesamtstickstoff wurde dadurch der Purinbasen- sowie der Ammoniakstickstoff vermehrt, der Monoaminosäuren- und Diaminosäurestickstoff jedoch vermindert.

Die den Purinbasen- und Ammoniakstickstoff vermehrende Wirkung des Dehydronorcholens tritt bei einem 0.08 und 0.2%igen Gehalt an Dehydronorcholen am stärksten auf, dagegen verhält sich die Wirkung des Dehydronorcholens bei einem 0.4 und 0.8%igen Gehalt vielmehr ganz umgekehrt und der Purinbasen- und Ammoniakstickstoff wurde vermindert gefunden, wobei der Monoaminosäuren- sowie Diaminosäurenstickstoff etwas vermehrt zu sein scheint.

Dieses Ergebnis stimmt im allgemeinen mit denen von *T. Hosokawa*⁴⁹⁾, *Karasawa*^{50), 51)} und *K. Tanaka*⁵²⁾ überein, daß bei Autolyse von Ochsenleber, Stierhoden und Schweinehoden der Eiweißstoff-

wechsel durch Gallensäure im allgemeinen gehemmt, jedoch der Nukleinstoffwechsel gefördert wird. Durch die Untersuchungen von K. Mayeda⁵³⁾ und G. Sugiyama⁵⁴⁾ wurde festgestellt, daß die Desaminierung der Aminosäuren in der Niere durch Cholsäure bei ihrem adequateen Gehalt gefördert, dagegen bei überschüssigen Zusatz derselben gehemmt wird.

In diesen Fällen müssen die Mono- und Diaminosäuren und das Ammoniak je nach der zugesetzten Gallensäuremenge entweder vermehrt oder vermindert sein.

Beim Versuch mit Dehydronorcholen wird der Gehalt an Ammoniak und Purinbasen im Autolysat bei kleinerer Menge des Dehydronorcholens vermehrt, dagegen der Gehalt an Mono- und Diaminosäuren vermindert, während es sich bei größerer Menge desselben ganz umgekehrt verhält.

Das Dehydronorcholen wirkt also bei Muskelautolyse auf den Nukleinstoffwechsel fördernd und auf den Aminosäurenstoffwechsel hemmend, genau wie es bei Gallensäure der Fall war.

Bei der Muskelautolyse wurde aber der Gesamtstickstoff durch Dehydronorcholen etwas vermehrt gefunden, was auf der Vermehrung der Nukleinbasen, besonders der Purinbasen, beruhen muß. Dehydronorcholen wirkt also auf den Nukleinstoffwechsel stärker fördernd als die Gallensäure selbst.

2. Einfluß des Dehydronorcholens auf den Stoffwechsel im Tumorgewebe.

Es wurde bereits festgestellt, daß der Eiweiß- bzw. Nukleinstoffwechsel selbst durch eine kleinere Menge des Dehydronorcholens stark fördernd beeinflusst wird. Da der Kohlehydratstoffwechsel bzw. die Milchsäurebildung, wie von Meyerhof und Lohmann gezeigt wurde, mit dem Nukleinstoffwechsel in innigem Zusammenhang steht, wurde in vorliegendem Versuch der Einfluß des Dehydronorcholens auf die Milchsäurebildung und auf den Purinbasengehalt im transplantierten Krebstumor der Ratten nach Flexner-Jobling untersucht.

Versuchsmaterialien:

Der Krebstumor der Ratten wurde abpräpariert, von dem nekrotischen Teil um den Tumor herum befreit und im Mörser zu Brei zerrieben. Dieser Brei wurde mit einer fünffachen Menge von sterilisierter physiologischer Kochsalzlösung versetzt und gut durchgerührt. Diese Behandlung wurde ganz aseptisch ausgeführt.

Diese Lösung wurde den jungen kräftigen Ratten vom Körpergewicht von 100–130 g subkutan am Rücken eingespritzt. Nach 10 Tagen, spätestens nach 15 Tagen konnte am Rücken unter der Haut ein Tumor durch Berühren mit dem Finger festgestellt werden. Auf diese Weise wurde das Krebsgewebe der einen Rattengruppe erhalten. Dieses gut gewachsene Krebsgewebe wurde in gleicher Weise wie vorher den anderen Gruppen der Ratten subkutan implantiert. Diese Behandlung wurde hintereinander fortlaufend ausgeführt, um immer neues Krebsgewebe gewinnen zu können. Es wurde darauf geachtet, für die Transplantation einen immer frischen und gut gewachsenen Tumor zu wählen, damit das injizierte Krebsgewebe sich möglichst in gleicher Größe entwickeln konnte.

Methodik:

Nachdem die Krebszellen 30–40 Ratten subkutan einverleibt worden waren und der Tumor erst zu einer solchen Größe gewachsen war, um mit dem Nonius gemessen werden zu können, wurde die erste, dann später die zweite und zuletzt die dritte Gruppe der Ratten ausgewählt, die alle einen mit dem Nonius meßbaren Tumor hatten. Jede Gruppe bestand aus 10 Ratten, die in 2 Gruppen eingeteilt waren und von der die eine zum eigentlichen Versuch und die andere zur Kontrolle verwendet wurden.

Zum Versuch wurde den 10 Versuchsratten, deren Krebstumor mit dem Nonius nach Länge, Breite und Höhe gemessen wurde, erst 1 cc einer 10%igen Dehydronorcholenlösung in Olivenöl und den 10 Kontrolltieren nur 1 cc Olivenöl in der Nähe des Tumors subkutan einverleibt. Einen Tag um den anderen wurde wieder den Versuchstieren sowie den Kontrolltieren dieselbe Lösung, im ganzen 4 mal, eingespritzt, nachdem zuvor die Größe des Tumors mit dem Nonius gemessen worden war.

In genau der gleichen Weise wurde allen Reihen von Versuchstieren, denen Krebsgewebe einverleibt worden waren, 0,5–1,0 cc einer 5%igen oder 2%igen und 1 cc einer 0,1%igen, 0,5%igen oder 1,0%igen olivenöhlhaltigen Dehydronorcholenlösung alle 2 Tage insgesamt 4 mal in der Nähe des Tumors subkutan eingespritzt und den anderen Reihen der Krebstumor tragenden Versuchsratten als Kontrolle dieselbe Menge des Olivenöls allein subkutan injiziert. 8 Tage nach der ersten Injektion wurde die Tumorgöße aller Versuchstiere und Kontrolltiere mit dem Nonius gemessen. Dann wurden die Tiere unter Verblutung an der Carotis getötet, möglichst schnell der Tumor herausgenommen und gewogen. Nachdem das den Tumor umgebende Gewebe abgeschnitten war, wurde es teils für die histologische Untersuchung in *Tschenkelscher* Lösung auf-

bewahrt und teils, meistens 1–3 g des Tumorgewebes, je nach der Größe, sofort für die Bestimmung der Milchsäure und Purinbasen verwendet.

Die Bestimmungen wurden möglichst schnell vorgenommen, um anaerobe Glykolyse und Autolyse zu vermeiden.

a) Bestimmung der Milchsäure im Tumorgewebe:

Die Bestimmung der Milchsäure wurde nach der von *Tanağa* u. *Yendoh* modifizierten *Fürth*- u. *Charnass*-Methode⁵⁵⁾ folgenderweise ausgeführt: 1–3 g Tumorgewebe wurde in 15 cc einer 30%igen KalilaugeLösung auf dem Sandbad 5 Minuten lang gekocht, nach der Abkühlung mit 30 cc verdünnter Schwefelsäure und Wasser auf 60 cc aufgefüllt, mit 25 g Ammonsulfat gut vermischt, um das Eiweiß auszufällen, und filtriert. Das Filtrat von 50 cc wurde mit 10 cc verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Äther einige Stunden lang ausgeäthert. Der Ätherauszug wurde unter Zusatz von 20 cc Wasser vom Äther abgedampft und die wässrige Lösung unter Zusatz von 0.2 g Zinkkarbonat auf dem Wasserbade zur Trockne abgedampft. Der Rückstand wurde in 30 cc verdünnter Schwefelsäurelösung und 120 cc Wasser gelöst und im Destillationsapparat nach *Tanağa* u. *Yendoh* unter Zusatz von $\frac{M}{200}$ Kaliumpermanganatlösung oxydierend in die Vorlage der $\frac{M}{100}$ Natriumthiosulfatlösung destilliert und das überschüssige Thiosulfat mit einer $\frac{M}{100}$ Jodlösung zurücktitriert. Der durch diese Methode erhaltene Milchsäurewert stellt die absolute Menge in mg und mg% der Milchsäure in 3 g Tumorgewebe dar.

b) Bestimmung der Purinbasen:

Sie wurde nach der modifizierten *Tannhauserschen*⁵⁶⁾ Methode folgendermaßen ausgeführt. 1–2 g Tumorgewebe wurden mit 3 g Seesand fein zerrieben, mit 20 cc Wasser in eine Porzellanschale eingegossen, unter Zusatz von einem Tropfen Essigsäure auf dem Sandbad 5 Minuten gekocht, nach dem Erkalten mit Wasser auf 30 cc aufgefüllt, gut vermischt und filtriert. Das Filtrat von 20 cc wurde mit je 20 cc Wasser und einer 1.55%igen UranazetatLösung versetzt, gut gemischt und filtriert. Das Filtrat von 30 cc wurde auf dem Wasserbade zum Volumen von ca. 10 cc eingengt, wobei wieder Eiweißfällung entstand, mit Wasser auf 30 cc gefüllt und wieder filtriert. Die Biureteiweißreaktion des Filtrates muß hierbei völlig negativ sein.

Das Filtrat von 20 cc wurde wieder auf 5 cc eingengt, wobei keine Eiweißfällung mehr entstehen darf und die Lösung ganz klar

sein muß. Diese Lösung wurde mit 0.5 cc einer 20 %igen Natriumazetatlösung und weiter mit 0.5 cc einer 40 %igen Natriumbisulfatlösung versetzt und erwärmt. Sobald die Lösung zu sieden begonnen hatte, wurde sie mit 1 cc einer 10 %igen Kupfersulfatlösung versetzt und 3–4 Minuten lang zu lebhaftem Sieden gebracht. Nach dem Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch abzentrifugiert, der Rückstand mit Wasser durchgerührt und wieder zentrifugiert. Diese Behandlung wurde einige Male wiederholt. Der mit Wasser gut gewaschene Rückstand wurde nach *Folin*⁵⁷⁾ mikrokjeldahlisiert. Mit dem erhaltenen Stickstoffwert wurde die absolute Menge der Purinbasenstickstoff in mg und mg % derselben angegeben.

c) Messung des Wachstumsgrades des Tumors :

Die Größe des Tumors wurde nach der Methode von *E. Gilroy*⁵⁸⁾ folgenderweise festgestellt: die Länge des Tumors wurde mit dem Nonius einfach, die Breite am breitesten Teil in senkrechter Richtung zur Länge und die Höhe an der höchsten Stelle von der Basis zum Gipfel gemessen. Diese drei Werte wurden miteinander multipliziert und als cm³ bezeichnet. Der Tumor-Wachstumsgrad der Kontrolltiere und der der injizierten Tiere wurde durch Dividieren des Wertes von injizierten Tieren mit dem der Kontrolltiere als Volumenverhältnis angegeben. Da die volumetrische Messung des Tumors keinen sicheren Wert ergibt, so wurde der Tumor nach dem Entfernen möglichst schnell gewogen und als das Gewichtsverhältnis der durch Dividieren der Gewichtszahl von injizierten Tieren mit der der Kontrolltiere erhaltene Wert bezeichnet.

Ergebnisse.

Die Resultate sind in den Tabellen 2 und 4 zusammengestellt.

Bei der alle zwei Tage viermalig erfolgenden Zufuhr des Dehydronorcholens wurde der Gehalt an Milchsäure sowie an Purinbasen am achten Tage nach der Zufuhr im allgemeinen vermehrt gefunden und diese Vermehrung war nach der Konzentration des Dehydronorcholens bis zu einem gewissen Grade verstärkt.

Die Vermehrung der Milchsäure und Purinbasen ist bei Zufuhr von 20 mg am geringsten, bei Zufuhr von 100 mg und 80 mg am größten (siehe Tabelle 2) gewesen. Der Milchsäuregehalt des Tumors wurde bei Zufuhr von 200 mg viel stärker vermindert und bei Zufuhr von 400 mg nicht nur der Milchsäuregehalt sondern auch der Purinbasengehalt vermindert gefunden.

Was den histologischen Befund und den Wachstumsgrad anbetrifft, so wurde gefunden, daß bei Zufuhr von 80 und 100 mg Dehydronorcholen das Volumenverhältnis sowie das Gewichtsverhältnis der Tumore im Vergleich mit denen der Kontrolle vermehrt

Tabelle 2

Dehydronorcholen totale Menge	Größe des Tumors			Milchsäure		Purinbasen	
	1. Tage	8. Tage		3.0 g Gewebe		2.0 g Gewebe	
mg	cm ³	cm ³	g	mg	mg %	mg	mg %
400	1.101	10.135	7.3	2.841	93.56	0.197	9.85
0	0.633	4.134	5.6	3.595	118.01	0.226	11.27
Vergleich mit Kontrolle	1.40 Volumenverhältnis 1.30 Gewichtsverhältnis			20.71 % Ver- mindert		12.61 % Ver- mindert	
200	1.071	23.522	11.9	3.280	106.21	0.312	15.42
0	0.795	7.382	9.7	3.734	123.13	0.279	13.74
Vergleich mit Kontrolle	2.36 Volumenverhältnis 1.23 Gewichtsverhältnis			14.63 % Ver- mindert		12.22 % Ver- mehrt	
100	1.095	15.168	13.8	4.605	151.99	0.331	16.57
0	0.856	6.092	7.5	3.701	122.55	0.270	13.50
Vergleich mit Kontrolle	1.95 Volumenverhältnis 1.85 Gewichtsverhältnis			24.02 % Ver- mehrt		12.74 % Ver- mehrt	
80	0.866	8.995	10.8	4.145	136.50	0.314	15.71
0	0.811	5.258	6.4	3.547	117.07	0.262	13.58
Vergleich mit Kontrolle	1.60 Volumenverhältnis 1.69 Gewichtsverhältnis			16.55 % Ver- mehrt		15.68 % Ver- mehrt	
40	0.904	8.736	9.1	4.038	133.25	0.267	13.34
0	0.719	5.203	6.9	3.636	119.33	0.257	12.85
Vergleich mit Kontrolle	1.34 Volumenverhältnis 1.32 Gewichtsverhältnis			11.11 % Ver- mehrt		3.81 % Ver- mehrt	
20	0.799	7.284	7.5	3.968	131.26	0.287	14.34
0	0.649	4.625	6.5	3.671	121.08	0.275	14.04
Vergleich mit Kontrolle	1.28 Volumenverhältnis 1.15 Gewichtsverhältnis			8.41 % Ver- mehrt		2.14 % Ver- mehrt	
4	0.763	6.153	6.9	3.775	124.57	0.287	14.78
0	0.918	6.434	7.4	3.655	120.63	0.288	14.39
Vergleich mit Kontrolle	1.15 Volumenverhältnis 0.93 Gewichtsverhältnis			unverändert		unverändert	

ist, und daß der Tumor in diesem Falle außerdem histologisch ver-

Tabelle 3

Na-Cholat totale Menge	Größe des Tumors			Milchsäure		Purinbasen	
	1. Tage	8. Tage		3.0 g Gewebe		2.0 g Gewebe	
mg	cm ³	cm ³	g	mg	mg %	mg	mg %
100	0.750	5.735	7.0	4.070	134.31	0.243	12.17
0	0.814	6.103	7.3	3.652	120.52	0.272	13.62
Vergleich mit Kontrolle	1.02 Volumenverhältnis 0.96 Gewichtsverhältnis			11.35 % Vermehrt		10.65 % Vermindert	
40	0.681	7.524	8.5	3.938	129.62	0.264	12.68
0	0.715	7.662	8.3	3.599	118.78	0.271	13.50
Vergleich mit Kontrolle	1.03 Volumenverhältnis 1.02 Gewichtsverhältnis			9.14 % Vermehrt		6.07 % Vermindert	
20	0.809	8.388	9.5	3.885	128.22	0.254	12.72
0	0.786	8.563	9.8	3.629	119.74	0.270	13.48
Vergleich mit Kontrolle	0.95 Volumenverhältnis 0.97 Gewichtsverhältnis			7.08 % Vermehrt		5.64 % Vermindert	
4	0.674	7.776	8.5	3.243	107.00	0.296	14.82
0	0.837	8.800	9.4	3.635	120.01	0.273	13.69
Vergleich mit Kontrolle	1.10 Volumenverhältnis 0.90 Gewichtsverhältnis			10.68 % Vermindert		8.25 % Vermehrt	
2	0.840	8.750	8.2	3.321	109.59	0.289	14.43
0	0.804	9.497	10.0	3.700	122.19	0.271	13.54
Vergleich mit Kontrolle	0.88 Volumenverhältnis 0.82 Gewichtsverhältnis			10.48 % Vermindert		6.57 % Vermehrt	

mehrte Kernteilung und starke Nekrose gezeigt hat. Im allgemeinen wurde bei obenerwähnten Fällen lebhaftes Wachstum des Tumors beobachtet. Besonders war dies bei Zufuhr von 100 mg Dehydronorcholen der Fall.

Bei Zufuhr von 400 mg Dehydronorcholen wurde das Volumenverhältnis vergrößert, aber das Gewichtsverhältnis nicht im gleichen Maße erhöht gefunden. Das histologische Bild des Tumors war dabei stark nekrotisch und das Bild der Kernteilung sehr schwach gewesen, was alles zu zeigen scheint, daß der Tumor nicht mehr wachsen konnte. Das nekrotische Bild des Tumors konnte auch makroskopisch beobachtet werden.

Tabelle 4

Nr.	10 % Dehydronorcholen- olivenöllösung 1 cc pro Kopf subkutan		2 % Dehydronorcholen- olivenöllösung 1 cc pro Kopf subkutan		0.1 % Dehydronorcholen- olivenöllösung 1 cc pro Kopf subkutan		Kontrolle	
	Größe des Tumors	Milchsäurewert nach 5 Stunden (3.0 g Gewebe)	Größe des Tumors	Milchsäurewert nach 5 Stunden (3.0 g Gewebe)	Größe des Tumors	Milchsäurewert nach 5 Stunden (3.0 g Gewebe)	Größe des Tumors	Milchsäurewert nach 5 Stunden (3.0 g Gewebe)
1	g 10.2	mg (mg %) 4.352 (146.32)	g 13.2	mg (mg %) 4.310 (142.23)	g 11.5	mg (mg %) 4.185 (138.11)	g 11.3	mg (mg %) 3.865 (127.55)
2	7.5	3.851 (127.09)	10.1	4.125 (136.13)	8.9	3.963 (130.78)	9.8	3.672 (121.18)
3	8.2	4.132 (136.36)	8.2	3.843 (126.82)	7.6	3.652 (120.52)	12.1	4.216 (141.23)
4	6.3	3.685 (121.61)	7.3	3.768 (124.34)	9.9	3.780 (124.74)	7.5	3.650 (120.45)
5	9.4	4.236 (139.79)	9.6	3.674 (121.24)	8.5	3.835 (126.56)	10.5	3.745 (123.59)
6	8.3	3.745 (123.59)	6.2	3.786 (124.94)	3.7	2.745 (91.59)	5.7	3.430 (113.19)
7	5.3	3.653 (120.55)	3.9	3.421 (112.89)	4.5	3.256 (107.45)	4.3	3.216 (106.13)
8	3.7	3.432 (113.26)	4.5	3.463 (114.29)	4.3	3.437 (113.42)	6.8	3.423 (112.86)
9	4.5	3.553 (117.25)	5.2	3.685 (121.61)	3.5	3.358 (110.81)	4.1	2.958 (94.61)
10	6.0	3.742 (123.49)	4.7	3.524 (116.29)	4.0	3.421 (112.89)	6.1	3.225 (106.43)
Durch- schnitts- wert	6.9	3.838 (126.66)	7.3	3.760 (124.08)	6.6	3.563 (117.69)	7.8	3.540 (116.72)
Vergleich mit Kontrolle	0.90 (Ge- wichts- ver- hältnis)	8.55 % Vermehrt	0.94 (Ge- wichts- ver- hältnis)	6.22 % Vermehrt	0.86 (Ge- wichts- ver- hältnis)	un- verändert		

Bei Zufuhr von 200 mg Dehydronorcholen erschien das nekrotische Bild des Tumors makroskopisch nicht so deutlich wie im vorigen Fall, aber histologisch war es sehr deutlich erkennbar, während dabei eine im Vergleich zum vorigen Fall stärkere Kernteilung des Tumors beobachtet wurde. Dies alles zeigt, daß der Tumor immer noch weiter wachsen wird.

Bei Zufuhr einer geringeren Menge von Dehydronorcholen (10, 20 und 40 mg) wurde hinsichtlich des Volumen- sowie des Gewichts-

Tabelle 5

Nr.	2 % Na-Cholat 2 cc pro Kopf subkutan		0.1 % Na-Cholat 4 cc pro Kopf subkutan		Kontrolle	
	Größe des Tumors	Milchsäurewert nach 5 Stunden (3.0 g Gewebe)	Größe des Tumors	Milchsäurewert nach 5 Stunden (3.0 g Gewebe)	Größe des Tumors	Milchsäurewert nach 5 Stunden (3.0 g Gewebe)
1	g 17.3	mg (mg %) 4.365 (144.05)	g 10.5	mg (mg %) 3.764 (124.21)	g 11.3	mg (mg %) 3.875 (127.88)
2	12.5	4.243 (140.02)	8.2	3.542 (116.89)	8.2	3.642 (120.19)
3	10.2	3.785 (124.41)	5.3	3.327 (109.79)	7.8	3.571 (117.84)
4	9.4	3.844 (126.85)	6.2	3.463 (114.28)	6.9	3.685 (121.61)
5	12.3	3.856 (127.24)	7.6	3.350 (110.55)	8.3	3.863 (127.48)
6	4.2	3.573 (117.91)	4.2	2.874 (94.82)	3.2	3.212 (106.00)
7	3.7	3.652 (120.52)	3.7	2.821 (93.09)	4.8	3.345 (110.39)
8	5.2	3.573 (117.91)	4.4	3.210 (105.93)	3.7	2.864 (94.52)
9	7.1	3.645 (120.29)	3.9	2.768 (91.34)	5.1	3.485 (115.01)
10	4.5	3.521 (116.19)	4.1	3.142 (103.69)	4.2	3.286 (108.44)
Durch- schnittswert	8.6	3.806 (125.52)	5.8	3.226 (106.46)	6.4	3.483 (115.14)
Vergleich mit Kontrolle	1.34 (Gewichts- verhältnis)	8.15 % Vermehrt	0.90 (Gewichts- verhältnis)	7.53 % Ver- mindert		

verhältnisses des Tumors auch bei seinem histologischen Bild im Vergleich zur Kontrolle kein merklicher Unterschied gefunden.

d) Der Milchsäuregehalt des Tumors nach 5 Stunden bei Zufuhr von Dehydronorcholen.

Im vorigen Versuch wurde der Einfluß des Dehydronorcholens auf den Stoffwechsel im Tumor während seines Wachstums untersucht. Diesmal wurde dessen Einfluß auf den Zuckerstoffwechsel des Tumors, welcher noch nicht gut entwickelt war, untersucht und zwar der Milchsäuregehalt dieses Tumors 5 Stunden nach der Zufuhr des Dehydronorcholens bestimmt.

Zum Versuch wurden solche Ratten verwendet, die fast gleich großen Tumor hatten. Diese Ratten wurden in 2 Gruppen geteilt, der einen eine bestimmte Menge von Dehydronorcholen injiziert und die andere Gruppe als Kontrolle behandelt. 5 Stunden nach der Injektion des Dehydronorcholens wurde die Milchsäure des Tumorgewebes in genau der gleichen Weise wie vorher bestimmt.

Aus der Tabelle 4 geht hervor, daß bei Zufuhr von 100 mg Dehydronorcholen der Milchsäuregehalt des Tumors nach 5 Stunden im Vergleich mit der Kontrolle am stärksten vermehrt ist und dem Vermehrungsgrad nach folgt diesem der bei Zufuhr von 20 mg desselben. Der Milchsäuregehalt bei Zufuhr von 1 mg bleibt durch Dehydronorcholen ganz unbeeinflußt.

Besprechung.

Bei Zufuhr einer größeren Menge von Dehydronorcholen (400 mg) wurde der Gehalt an Milchsäure sowie an Purinbasen im Tumorgewebe vermindert gefunden. Diese Verminderung der Milchsäure im Tumorgewebe stimmt mit dem Befund überein, daß der Tumor dabei makroskopisch und histologisch ein stark nekrotisches Bild gezeigt hat, da nach *Warburg, Posener u. Negelein*⁵⁹⁾ die Glykolyse des nekrotischen Krebsgewebes stark herabgesetzt ist und die Milchsäure im nekrotischen Teil fast nicht nachgewiesen werden konnte.

Aus den Daten, daß der Milchsäuregehalt des jungen, noch nicht gut ausgewachsenen Tumors 5 Stunden nach der Zufuhr von 1 cc einer 10%igen Lösung Dehydronorcholen am stärksten vermehrt ist, scheint hervorzugehen, daß das Dehydronorcholen eine die Glykolyse des Tumors verstärkende Wirkung zeigt und daß diese verstärkende Wirkung um so deutlicher auftritt, je mehr Dehydronorcholen dem Organismus zugeführt wird.

Der Befund, daß der Purinbasengehalt des Tumorgewebes bei Zufuhr einer größeren Menge Dehydronorcholen stark vermindert ist, kann höchstwahrscheinlich auf der stärkeren Nekrose und schwächeren Kernteilung beruhen, während er bei der einer kleinen Menge vermehrt ist. Dies stimmt mit dem Ergebnis von *Euler*⁶⁰⁾, *Edlbacher u. Kutscher*⁶¹⁾ überein, daß der Nukleinstoffwechsel des Tumors unter Vermehrung der Nukleotidase und unter lebhafter Dephosphorylierung der Nukleinsäure im Tumorgewebe gesteigert ist. Nach *M. E. Mayer u. C. Voegtlin*⁶²⁾ soll das Arsen durch seinen die Dephosphorylierung der Nukleotide hemmende Einfluß auf den Krebstumor heilend einwirken.

Es spricht auch dafür, daß im Karzinomgewebe unter lebhafter Kernteilung der Nukleinstoffwechsel gesteigert ist. Infolgedessen kann der Nukleinstoffwechsel im Tumorgewebe bei Zufuhr von

400 mg Dehydronorcholen unter stärkerer Nekrose und verminderter Kernteilung herabgesetzt sein, was eine Verminderung der Purinbasen im Tumorgewebe zur Folge haben muß.

Daher wurde bei Zufuhr einer kleineren Menge desselben (200 mg) mit der Verminderung des Milchsäuregehaltes histologisch das nekrotische Bild deutlich beobachtet und dabei mit der Vermehrung der Purinbasen eine vermehrte Nekrose und verminderte Kernteilung ermittelt. In diesem Fall muß also der Krebstumor unter partieller Nekrose immer noch anwachsen.

Bei Zufuhr einer noch kleineren Menge von Dehydronorcholen (80 - 100 mg) wurde der Gehalt an Milchsäure und an Purinbasen am stärksten vermehrt gefunden und zugleich zeigte der Tumor makroskopisch ein frisches Aussehen und mikroskopisch geringere Nekrose mit stärkerer Kernteilung. Hierbei wurde im allgemeinen ein lebhaftes Wachstum des Tumors beobachtet.

Bei Zufuhr einer sehr kleinen Menge von Dehydronorcholen (20 - 40 mg) wurde entweder eine geringe oder gar keine Vermehrung der Milchsäure und der Purinbasen gefunden, was mittels des Volumenverhältnisses, Gewichtsverhältnisses und des mikroskopischen Bildes festgestellt wurde.

Bei den Untersuchungen des Einflusses von Dehydronorcholen auf den Nukleinstoffwechsel wurden sowohl im normalen als auch im karzinomatösen Gewebe gleiche Resultate gewonnen, indem die Zufuhr einer kleineren Menge davon den Nukleinstoffwechsel des Tumorgewebes steigern, einer größeren dagegen hemmen konnte.

Was den Einfluß des Dehydronorcholens auf das Wachstum des Tumors anbetrifft, so wurde gefunden, daß bei Zufuhr von ca. 50 mg oder weniger Dehydronorcholen kein Einfluß auf das Wachstum zu beobachten war, wie *Haddow* u. *Robinson*⁴⁵⁾ bei ihrem Versuch mit *Walker*-Karzinom beobachten konnten.

Aber bei vermehrter Zufuhr von Kohlenwasserstoff (80 - 400 mg) wurde das Wachstum des Tumors deutlich gefördert gefunden. *T. Kondo*⁶³⁾ hat auch vor kurzem experimentell bewiesen, daß die Desoxycholsäure das Wachstum des Tumors fördern konnte. Allerdings haben *Haddow* u. *Robinson*^{44 D)} bei Zufuhr von sogenanntem karzinogenem Kohlenwasserstoff keine wachstumsfördernde sondern vielmehr eine wachstumhemmende Wirkung beobachtet. Somit liegt die Annahme nahe, daß das Dehydronorcholen und die Desoxycholsäure, die beide auf den Tumor wachstumsfördernd wirken können, zu einer anderen Kategorie als die karzinogenen Kohlenwasserstoffe nach *Haddow* u. *Robinson* gehören. Wie oben erwähnt, wurde die fördernde Wirkung des aus der Desoxycholsäure bereiteten Dehydronorcholens auf das Tumorstadium bewiesen, und zwar wurde

ein Zusammenhang zwischen dem Wachstum und dem Stoffwechsel des Tumors ermittelt.

3. *Einfluß der Cholsäure auf den Stoffwechsel des Rattenkrebses.*

Das Experiment wurde genau wie vorher ausgeführt. Bei Zufuhr von 1 cc einer 5 %igen oder 10 %igen Natriumcholatlösung, die einen Tag um den anderen viermal ausgeführt wurde, sind die Krebsratten alle gestorben. So habe ich zum Versuch verschiedene noch kleinere Mengen bei einmaliger Zufuhr von 0.5 cc einer 5 %igen Cholatlösung gebraucht. Dabei sind jedoch einige Tiere gestorben. Daher wurden nur solche Tiere, die alle 2 Tage je 4 Mal Injektion bekommen und 8 Tage nach der letzten Injektion noch gelebt hatten, zum Versuch verwendet. Da dabei kein Unterschied in der Größe des Tumors vor und nach der Zufuhr der Cholsäure gefunden wurde, wurde der Tumor histologisch nicht untersucht.

Die Resultate sind in den Tabellen 3 und 5 zusammengefaßt angegeben.

Ergebnisse.

8 Tage nach der viermaligen Injektion der Cholsäure, die einen Tag um den anderen und zwar mit 100, 40 und 20 mg Cholsäure erfolgte, wurde der Milchsäuregehalt im Tumorgewebe vermehrt, dagegen der Purinbasengehalt vermindert gefunden (siehe Tabelle 3). Dieser Befund wurde bei Zufuhr von 100 mg Cholsäure am deutlichsten und stärksten beobachtet.

Bei Zufuhr von 4–2 mg Cholsäure wurde aber gerade der umgekehrte Befund wie vorher erhalten, indem dabei der Gehalt an Milchsäure vermindert und der an Purinbasen vermehrt war (siehe Tabelle 3). Der Milchsäuregehalt fünf Stunden nach der Cholsäurezufuhr wurde bei 40 mg vermehrt und bei 4 mg vermindert gefunden, wie aus der Tabelle 5 ersichtlich ist.

Besprechung.

Es ist bereits bekannt geworden, daß die Gallensäure unter Vermittlung des Nervus Sympathicus gegen Adrenalin hypoglykämisch antagonistisch wirkt, daß sie die Glykogenie der Leber unter günstiger Resorption des Zuckers aus dem Darm fördert und daß diese Förderung unter alkalischer Pufferung stärker auftritt, wie von vielen Autoren⁶⁴⁾ im hiesigen Institut bewiesen wurde.

Weiter wurde durch die Untersuchungen von vielen Autoren⁶⁵⁾ im hiesigen Institut (Karasawa, Hatakeyama, K. Tanaka, Watanabe u.

Mayeda) bewiesen, daß der Nukleinstoffwechsel durch Gallensäure gefördert wird, indem durch vermehrte Phosphatpufferung und durch Vermehrung der Purinnukleotide, Purinnukleoside und Purinbasen im Blut die Glykogenie der Leber vermehrt wird.

Nach *Teraoka*⁶⁶⁾ soll der Milchsäuregehalt im autolysierten Muskel und in der Leber durch Zusatz einer kleinen Menge von Cholsäure vermindert, dagegen durch Zusatz einer größeren vermehrt werden. Beim Karzinomgewebe wurde auch durch Zufuhr einer kleinen Menge von Cholsäure der Gehalt der Milchsäure vermindert und der der Purinbasen vermehrt gefunden. Bei Zufuhr einer größeren Menge Cholsäure wurde dagegen der Gehalt an Milchsäure im Karzinomgewebe sowohl während der Wachstumszeit als auch einige Zeit nach der Impfung des Tumorgewebes vermehrt gefunden.

Die Cholsäure übt also den gleichen Einfluß auf den Nuklein- und Zuckerstoffwechsel sowohl im Karzinomgewebe als auch im normalen Gewebe aus.

Bei Zufuhr einer größeren Menge von Cholsäure vermehrte sich die Milchsäure im Karzinomgewebe, aber das Wachstum des Tumors wurde dabei nicht gefördert, was auf dem hemmenden Einfluß der Cholsäure auf den Nukleinstoffwechsel im Tumorgewebe beruhen dürfte. In der Tat wurde der Purinbasengehalt im Karzinomgewebe durch Zufuhr einer größeren Menge Cholsäure vermindert gefunden.

Zusammenfassung.

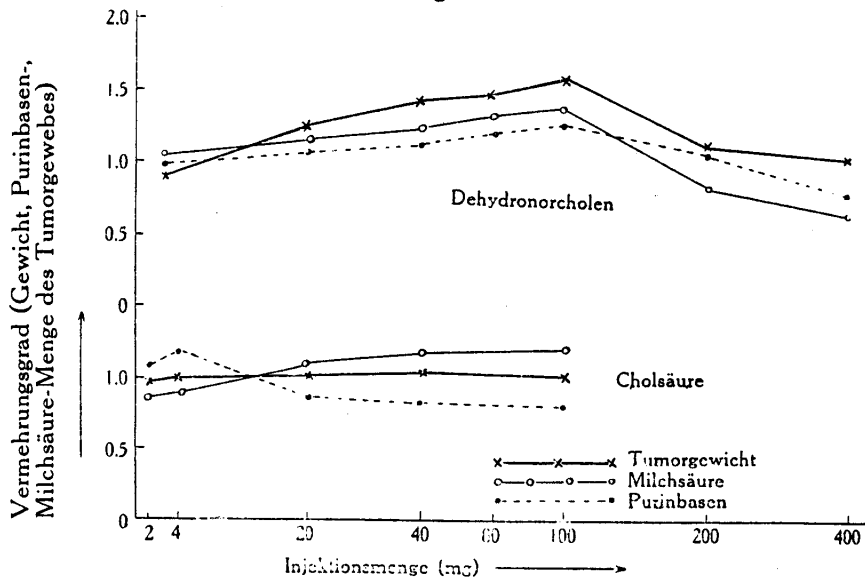
Um den Einfluß des Dehydronorcholens und der Cholsäure auf den Zucker- und Nukleinstoffwechsel im Karzinomgewebe zu vergleichen, wurde der durchschnittliche mg%ige Wert der Milchsäure und der Purinbasen durch Division mit dem Wert der Kontrollen, letzterer als 1 errechnet, als eine Kurve verzeichnet und in Figur 1 angegeben.

Aus Figur 1 läßt sich ersehen, daß die Kurve des Purinbasen- und Milchsäuregehaltes je nach dem Mengenverhältnis des Dehydronorcholens fast parallel, während die der Cholsäure ganz umgekehrt verläuft; Bei Zufuhr von Dehydronorcholen wird der Gehalt an Milchsäure sowie an Purinbasen im Tumorgewebe bei 100 mg am stärksten vermehrt, um bei einer größeren und kleineren Menge als 100 mg ebenfalls abzunehmen. Bei Zufuhr von Cholsäure wird der Gehalt an Milchsäure bei 20 - 100 mg vermehrt, um bei einer noch kleineren Menge allmählich vermindert zu werden, während dabei der Gehalt der Purinbasen gerade umgekehrt bei 20 - 100 mg ver-

mindert gefunden wurde, um bei einer noch kleineren Menge vermehrt zu werden.

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß das Dehydronorcholen auf das Wachstum des Karzinomgewebes fördernd wirkt, während die Cholsäure auf das Karzinomgewebe in genau der gleichen Weise wirkt wie beim normalen Gewebe.

Fig. 1.



Literatur.

- ¹ Euler, H. v., Deutsch. med. Wschr. Jg. 64, 1712, 1938. — ² Kennaway, E. L., Biochem. J. 24, 498, 1930. — ³ Hieger, I., Ebenda 24, 505, 1930. — ⁴ Cook, J. W., Journ. chem. Soc. 1087, 1930. — ⁵ Clar, E., Ber. deut. chem. Ges. 62, 350, 1929. — ⁶ Cook, J. W., Hieger, I., Kennaway, E. L., Proceed. Roy. Soc. London 111, 456, 1932. — ⁷ Barry, G., Cook, J. W., Haslewood, G. A. D., Ebenda 117, 318, 1935. — ⁸ Wieland, H., Dane, E., Z. physiol. Chem. 219, 240, 1933. — ⁹ Fieser, L. F., Newman, M. S., Journ. Amer. Chem. Soc. 57, 961, 1935. — ¹⁰ Cook, J. W., Ber. deut. chem. Ges. 69, 44, 1936. — ¹¹ Cook, J. W., Ebenda 69, 46, 1936. — ¹² Warburg, O., Biochem. Z. 142, 317, 1923. — ¹³ Minami, S., Ebenda 142, 334, 1923. — ¹⁴ Negelein, E., Ebenda 158, 121, 1925. — ¹⁵ Lüscher, E., Schweiz. med. Wschr. Jg. 9, 1101, 1928. — ¹⁶ Mellanby, E., Biochem. J. 24, 141, 1930. — ¹⁷ Glover, H. C., Z. Krebsforsch. 37, 69, 1932. — ¹⁸ Warburg, O., Klin. Wschr. Jg. 6, 2047, 1927. — ¹⁹ Herbert, G. C., Biochem. J. 22, 1289, 1928. — ²⁰ Herbert, G. C., Ebenda 23, 536, 1929. — ²¹ Dickens, F., Ebenda 26, 1546, 1932. — ²² Kraut, H., Bumm, E., Z. physiol. Chem. 177, 125, 1928. — ²³ Lasnitzki, A., Z. Krebsforsch. 22, 536, 1925. — ²⁴ Neuberg, C., Ebenda 32, 92, 1930. — ²⁵ Okamoto, Y., Biochem. J. 160, 52, 1925. — ²⁶ Warburg, O., Posener, K., Negelein

- E.*, Biochem. Z. 152, 309, 1924. — ²⁷ *Rosenthal, O., Lasnitzki, A.*, Klin. Wschr. Jg. 7, 200, 1928. — ²⁸ *Bernhard, Fr.*, Ebenda Jg. 7, 1184, 1928. — ²⁹ *Bierich, R.*, Z. physiol. Chem. 214, 277, 1933. — ³⁰ *Bierich, R.*, Ebenda 155, 247, 1926. — ³¹ *Meyerhof, O.*, Biochem. Z. 178, 463, 1926. — ³² *Loebel, R. O.*, Ebenda 161, 219, 1925. — ³³ *Bierich, R., Rosenbohm, A.*, Z. physiol. Chem. 214, 277, 1933. — ³⁴ *Euler, H. v.*, Deutsch. med. Wschr. Jg. 64, 1758, 1938. — ³⁵ *Kocher, R. A.*, J. biol. Chem. 22, 295, 1915. — ³⁶ *Yoshimoto, S.*, Biochem. Z. 22, 299, 1910. — ³⁷ *Drumond, J. C.*, Biochem. J. 11, 246, 1917. — ³⁸ *Blumenthal, F.*, Z. Krebsforsch. 5, 182, 1907. — ³⁹ *Euler, H. v.*, Deutsch. med. Wschr. Jg. 64, 1712, 1938. — ⁴⁰ *Edlbacher, S., Merz, K. W.*, Z. physiol. Chem. 171, 252, 1927. — ⁴¹ *Klein, G., Ziese, W.*, Z. Krebsforsch. 37, 321, 1932. — ⁴² *Wells, H. G., Esmond, R. L.*, Ebenda 12, 598, 1913. — ^{42A} *Kaiju, M.*, Jl. of Bioch. 29, 81, 1939. — ^{42B} *Kaiju, M.*, Ebenda 27, 35, 1938. — ⁴³ *Petry, E.*, Z. physiol. Chem. 27, 398, 1899. — ^{44A} *Cook, J. W.*, Bull. Soc. Chem (5) 4, 792, 1937. — ^{44B} *Fieser, L. F. u. Seligman, A. M.*, J. Amer. Chem. Soc. 59, 883, 1937. — ^{44C} *Baner, K. H.*, Arch. klin. Chir. 189, 1, 1937. — ^{44D} *Haddow, A.*, Nature 136, 868, 1935. — ^{44E} *Pybus, F. C. u. Miller, E. W.*, Brit. Jl. of exp. Path. 18, 126, 1937. — ^{44F} *Waddington, C. H., Needham, D. M.*, Proceed. Roy. Soc. London 117, 310, 1935. — ⁴⁵ *Haddow, A., Robinson, A. M.*, Ebenda 122, 442, 1937. — ⁴⁶ *Wieland, H., Sorge, H.*, Z. physiol. Chem. 97, 18, 1916. — ⁴⁷ *Wiedersheim, V.*, Ebenda 150, 273, 1925. — ⁴⁸ *Krüger, M., Reich, O.*, Ebenda 39, 165, 1903. — ⁴⁹ *Hosokawa, T.*, Okayama I. Z. Jg. 37, 532, 1926 (Japanisch). — ⁵⁰ *Karasawa, R.*, Jl. of Bioch. 7, 145, 1927. — ⁵¹ *Karasawa, R.*, Ebenda 6, 139, 1926. — ⁵² *Tanaka, K.*, Ebenda 17, 111, 1933. — ⁵³ *Maeda, K.*, Ebenda 27, 415, 1938. — ⁵⁴ *Sugiyama, G.*, Ebenda 29, 105, 1939. — ⁵⁵ *Fürth, O. v., Charnass, D.*, Biochem. Z. 26, 199, 1910. — ⁵⁶ *Tannhauser, S. J.*, Z. physiol. Chem. 110, 309, 1920. — ⁵⁷ *Folin, O.*, J. Biol. Chem. 11, 493, 1912. — ⁵⁸ *Gilroy, E.*, Jl. of Bioch. 24, 589, 1930. — ⁵⁹ *Warburg, O., Posener, K., Negelein, E.*, Biochem. Z. 152, 312, 1924. — ⁶⁰ *Euler, H. v.*, Deutsch. med. Wschr. Jg. 64, 1712, 1938. — ⁶¹ *Edlbacher, S., Kutscher, W.*, Z. physiol. Chem. 199, 200, 1931. — ⁶² *Mayer, M. E., Voegtlin, C.*, Z. Krebsforsch. 47, 61, 1937. — ⁶³ *Kondo, T.*, Gann 31, 259, 1937 (Japanisch). — ⁶⁴ *Misaki, K.*, Jl. of Bioch. 8, 235, 1927; *Okamura, T.*, Ebenda 9, 271, 1928; *Tsuji, K.*, Ebenda 12, 139, 1931; *Tanaka, K.*, Ebenda 14, 463, 1932; *Fujiwara, K.*, Biochem. Z. 256, 384, 1932; 265, 76, 1933; *Miki, T.*, Ebenda 247, 445, 1932; *Chikamori, S.*, Okayama I. Z. Jg. 42, 1963, 1930; Jg. 43, 1946, 1931; Jg. 44, 9, 1932; *Yuuki, H.*, Z. physiol. Chem. 209, 1, 1932; *Fujita, S.*, Arb. Med. Fakul. Okayama 2, 151, 1930. — ⁶⁵ *Karasawa, R.*, Jl. of Bioch. 7, 145, 1927; *Watanabe, K.*, Biochem. Z. 255, 155, 1932; *Hatakeyama, T.*, Ebenda 274, 268, 1934; *Maeda, K.*, Okayama I. Z. Jg. 50, 1482, 1938; *Tanaka, K.*, Jl. of Bioch. 17, 111, 1933. — ⁶⁶ *Teraoka, M.*, Biochem. Z. 249, 95, 1932.